Münster 1936 No 65 Med Diss

Aus dem Hygienischen Institut
der Westf. Wilhelms-Universität zu Münster i. Westf.
Direktor: Professor Dr. K. W. Jötten.

Über unspezifische Adsorption von Bakteriophagen

❖

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität zu Münster (Westfalen)

vorgelegt von

Ernst Ebeling
approb. Zahnarzt
aus Celle i. H.

1935

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei Robert Kleinert, Quakenbrück.

Dekan: Professor K l i n g e.
Referent: Privatdozent Dr. Fr. S a r t o r i u s.
Korreferent: Professor Dr. K. W. J ö t t e n.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Adsorptionsvorgänge werden seit langem in neuerer Zeit verwandt, um Kulturgemische zu reinigen, bestimmte Stoffe aus ihnen zu isolieren oder sie anzureichern. Es hat sich dabei herausgestellt, daß es prinzipiell möglich ist, Stoffe, wie Virusarten, Toxine und Fermente aus ihren Lösungsmitteln herauszunehmen. Natürlich sind die jeweiligen optimalen Bedingungen, unter denen die Adsorption zustande kommt, recht verschieden, und sie bedürfen, sowohl was das Adsorbens als auch was den zu isolierenden Stoff angeht, noch viel gründlicher Arbeit.

Um Beispiele bisheriger Anwendung zu nennen, sei zunächst an die prägnanten Versuche von Kraus, von Eisler, und Fukuhara erinnert, die als erste versuchten, invisible Viren an adsorbierende Substanzen zu fixieren. Angeregt von den erfolgreichen Versuchen, das Lyssavirus an tierische Zellen zu adsorbieren, gingen sie weiter daran, verschiedene Substanzen, die als gute Adsorbentien bekannt waren, auf ihr Bindungsvermögen hin zu untersuchen. Es gelang den Forschern, das Virus an Knochenkohle, Kaolin und Aluminiumhydroxyd zu fixieren und durch Injektionen dieser Substanzen Tiere zu infizieren. Versuche, einen Teil des an Kohle adsorbierten Virus durch Erwärmung frei zu machen, waren ebenfalls erfolgreich. Virusbeladene getrocknete Kohle konnte man 9 Tage bei 36 Grad aufbewahren und nach dieser Zeit noch volle Wirksamkeit in Tierversuchen nachweisen.

E. Paschen wies in einer Arbeit auf die Möglichkeit hin, die Adsorption durch Kaolin, Tierkohle, Quarzsand und Aluminiumhydroxyd von Variolaerregern zu benutzen. Auf diese Weise konnte er aus sehr starken Virusverdünnungen die Erreger an den adsorbierenden Teilchen sammeln und angereichert und bakterienfrei gewinnen.

Gins und Kraus machten Adsorptionsversuche mit dem Virus der Maul- und Klauenseuche, ohne indessen zu einem eindeutigen Ergebnis zu kommen. Die Ergebnisse anderer Autoren mit demselben Virus waren widersprechender Natur. Während es Abe gelang, das Virus durch Kaolin bis zu einem gewissen

Grade und durch Tierkohle fast vollständig zu adsorbieren, konnte Dahmen durch Zusatz von Knochen, Stärke oder roten Blutkörperchen keine Adsorption feststellen.

Erwähnt sei hier ferner, daß Rosenthal in einer größeren Arbeit über Filtrierung des Virus der Hühnerpest Adsorptionsversuche mit Kaolin anstellte, die aber in bezug auf die Resultate, nach eigenem Urteil des Autors, als unsicher zu betrachten sind.

Nach Seidenberg haben alle Viren negative Ladung und werden in ähnlicher Weise adsorbiert. Doch sind meistens die Milieubedingungen so verschieden von einander, daß man generell darüber nichts aussagen kann. Weiter bleibt, selbst bei gleichen Verhältnissen, immer noch die Frage offen, inwieweit die Eiweißkörper, an denen das Virus haftet, zur Deutung der Adsorptionsvorgänge heranzuziehen sind.

Eine große Rolle spielt die Isolierung einheitlicher Fermente aus Fermentgemischen mit Hilfe der Adsorption. Da Begleitstoffe vom geeigneten Adsorbens unter Umständen nicht aufgenommen werden, gelingt auf diese Weise eine mehr oder weniger weitgehende Reinigung der Fermente. Ebenso kann man die Fermente durch ein Elutionsmittel wieder vom Adsorbens loslösen. Maßgebend für die Adsorption sind außer der Natur des Adsorbens und seiner elektrischen Ladung der Reinheitsgrad der fermenthaltigen Lösung, die Natur des Lösungsmittels, die Anwesenheit von Elektrolyten, die Wasserstoffionenkonzentration usw. Für die Befreiung der Fermente aus ihrer Bindung gilt in theoretischer und praktischer Hinsicht prinzipiell das Gleiche wie für die Adsorption. Die Zerlegung der Adsorbate wird gewöhnlich durch eine Aenderung des Reaktionsmilieus ermöglicht.

Lipase läßt sich, wie Willstätter zeigte, aus Glycerinauszügen durch Aluminiumhydroxyd und Kaolin leicht adsorbieren und mit Ammonphosphat ablösen. Euler und Josephsohn sowie auch Willstätter konnten die Saccharase mit Hilfe der Adsorption durch Aluminiumhydroxyd und Kaolin und darauf folgender Ablösung mit Ammoniak zur Darstellung bringen. Die Adsorption von Maltase durfte nicht mit Kaolin vorgenommen werden, da das Ferment in diesem Adsorbat, wie man feststellen konnte, zu Grunde ging. In neueren Versuchen gelang Willstätter und Bamann eine vollständige Trennung von Maltase und Saccharase durch Adsorption mit Aluminiumhydroxyd. Die Trennung von Amylase und Trypsin ließ sich durch zweimalige Einwirkung von Kaolin durchführen. Ebenso gelang es, die Enterokinase durch Adsorption mittels Tonerde vom Trypsin zu trennen. In allen Fällen fand die Ad-

sorption in leicht saurem Milieu statt. Diese Ergebnisse bestätigen frühere Versuche von Michaelis, Ehrenreich und M. A. Rakusin, die verschiedensten Fermente, wie Pepsin, Trypsin, Diastase, Lab und Invertin an Kohle, Kaolin, Tonerde und Aluminiumhydroxyd zu fixieren.

Um noch einige Versuche auf einem dritten Gebiet zu erwähnen, sei auf die Versuche von Zunz aufmerksam gemacht, Diphtherietoxine, Tetanustoxine und ihre Antitoxine zu adsorbieren. Aluminiumhydroxyd absorbierte Diphtherietoxin, Tetanustoxin und Tetanusantitoxin, nicht aber Diphtherieantitoxin. Die elektroosmotische Kieselsäure besaß ein größeres Bindungsvermögen für Diphtherie- und Tetanustoxin, als die chemisch reine Kieselsäure. Hingegen hatte letztere ein höheres Adsorptionsvermögen für Diphtherie- und Tetanusantitoxin als die elektroosmotische Kieselsäure. Kaolin, Kieselgur und Ton adsorbierten weder Diphterietoxin noch Diphterieantitoxin. Kaolin und Ton adsorbierten sowohl Tetanustoxin als auch Tetanusantitoxin, Kieselgur nur Tetanusantitoxin.

Biltz, Much und Siebert schüttelten die Gele von Eisenoxyd, Chromoxyd mit Diphtherietoxin und konnten eine Abnahme der Wirkung feststellen. Die Fähigkeit des Toxins, sich von verschiedenen ausgefällten Salzen absorbieren zu lassen, hat man in verschiedener Weise zur Darstellung der Toxine in reinerer Form zu verwenden versucht. In Gemeinschaft mit G. D. Flieher veröffentlichte M. A. Rakusin Adsorptionsversuche mit Kochs Alttuberkulin mittels Aluminiumhydroxyd. Man konnte jedoch nur kolloidale Beimengungen von unbestimmter Zusammensetzung fixieren, während der wirksame Bestandteil des Tuberkulins unberührt blieb.

Um auf das spezielle Gebiet der Adsorption zu kommen, so ist zu bemerken, daß bereits einige Versuche vorliegen, das lytische Agens zu adsorbieren und wieder abzulösen. Gleichgültig, ob es sich um eine Virusart oder um Fermentsplitter handelt, dürfen wir wohl annehmen, daß auch für die Adsorption des Bakteriophagen die gleichen Bedingungen wie für die Virusarten gelten. De Necker hat nachgewiesen, daß Lysine durch kolloidale Metalle, wie Cu, Aug, Se, J, Rh adsorbiert werden. Er fand, daß sich Aluminiumhydroxyd ganz besonders für Adsorptionszwecke eignet, und es gelang ihm auch das adsorbierte Lysin abzusprengen, wenn er es in geeignete Medien brachte. Damit zeigte de Necker, daß Lysin durch die Adsorption nicht geschädigt wurde, und daß es ähnlichen Gesetzen gehorcht wie Fermentlösungen.

Gildemeister und Herzberg benutzten lockere Kieselgur zur Adsorption von Lysinen, eine Möglichkeit, auf die schon von Seiffert hingewiesen worden war. Es ließ sich nachweisen, daß das Lysin völlig, oder nahezu völlig adsorbiert wurde. Durch Zusatz von Ammoniak gelang es den Autoren, annähernd die gleiche Menge Lysin, die vor der Adsorption vorhanden war, von der Kieselgur wieder abzulösen.

Fränkel und Schulz beschäftigten sich ebenfalls mit der Frage der Adsorption des d'Herelleschen Lysins durch verschieden geladene Adsorbentien. In zahlreichen Versuchen konnten sie nachweisen, daß elektropositiv geladene Substanzen wie Bolus alba, niemals den Bakteriophagen adsorbieren. Tierkohle-amphoter zeigte ein wechselndes Verhalten, adsorbierte dabei meistens nicht. Elektronegatives Kieselgur adsorbierte besser als geglühtes.

Sind in den Arbeiten der genannten Autoren prinzipielle Fragen erörtert, so soll in den nachstehenden Versuchen der Vorgang der Adsorption und der der Absprengung durch neuere Methodik genauer analysiert werden, und zwar mit besonderer Berücksichtigung der zeitlichen Bedingungen. Dabei muß man sich allerdings klar sein, daß es nicht möglich ist, die Adsorptionsvorgänge ganz rein zu betrachten, da die Milieubedingungen interferieren.

Zur Verfügung stand mir der Bakteriophage des Pseudoruhrstammes LZ. 107 (Rassetyp D). Die Versuche wurden mit folgenden Adsorbentien durchgeführt:

a) Aluminiumhydroxyd,
b) Tierkohle,
c) chemisch aktive Kohle,
d) vier verschiedene Arten von Kieselsäure,
e) Kaolin,
f) Bolus alba.

Adsorptionsversuche mit $Al(OH)_3$.

Das Aluminiumhydroxyd stellte ich mir aus 100 ccm einer 1proz. Aluminiumsulfatlösung her, die solange mit Ammoniak versetzt wurde, bis kein Niederschlag mehr ausfiel. Der Niederschlag wurde dann mit Aqu. dest. solange gewaschen, bis die Reaktion neutral war, dann abzentrifugiert und in 2,5 ccm Aqu. dest. aufgeschwemmt. 2 ccm des auf diese Weise gewonnenen Aluminiumhydroxyds setzte ich zu 10 ccm Bouillon (PH 7,5), die

0,1 ccm des Lysins enthielt. Dieses Gemisch wurde in einen Schüttelapparat gebracht und verschieden lang geschüttelt und zwar:

15 Min. — 30 Min. — 60 Min. — 60 Min. plus 8 Stunden Aufenthalt im Eisschrank — 60 Min. plus 24 Std. Eisschrank.

Von jedem dieser Versuchsröhrchen wurden dann Verdünnungsreihen angesetzt, um festzustellen, wie weit eine Adsorption stattgefunden hatte. Das Ansetzen solcher Reihen ging wie folgt vor sich:

Das geschüttelte Gemisch (Adsorbens-Lysin-Bouillon) wurde zentrifugiert und aus der überstehenden Flüssigkeit 0,1 ccm in ein erstes 10 ccm Bouillon enthaltendes Röhrchen gebracht. Nach sorgfältigem Umschütteln wurde wieder 0,1 ccm Lysinbouillon entnommen und in das zweite Röhrchen übertragen, danach 0,1 ccm aus diesem in das dritte usw. Eine Reihe bestand aus 5 Röhrchen, die also folgende Verdünnungen zeigten:

1 : 100 — 1 : 10 000 — 1 : 1 Million — 1 : 100 Millionen — 1 : 10 Milliarden. Diese fünf Verdünnungen dienten zur Prüfung der Sterilität, die eigentlichen Versuchröhrchen bekam ich dadurch, daß je 0,1 ccm aus diesen Kontrollröhrchen in je fünf neue Bouillonröhrchen übertragen wurden. Die Verdünnungen in dieser einen betrugen also: 1 : 10 000 — 1 : 1 Million — 1 : 100 Millionen — 1 : 10 Milliarden — 1 : 1000 Milliarden.

Weiterhin wurde dann den Röhrchen der Versuchsreihe je 0,5 ccm einer Bakterienemulsion von Pseudoruhrkeimen — 1 Oese auf 5 ccm Na Cl-Lösung — zugesetzt. Um ein Maß für den Grad der Adsorption zu haben, wurde gleichzeitig ein Versuch — ganz analog dem ersten — mit nicht adsorbiertem Lysin angesetzt, und das Ganze in den Brutschrank gebracht.

Bei Uebertragung von Inhalt aus einem früheren in ein späteres Röhrchen der Serie wurde immer die Pipette gewechselt, da es sonst möglich war, daß Flüssigkeit aus einer Röhre mit höherer Konzentration zurückblieb und Fehler verursachte. Die Bedeutung dieses Pipettenfehlers wurde von Doerr und Grüniger nachgewiesen.

Was nun die Auswertung dieser Adsorptionsversuche anlangt, so wurde in diesem Falle versucht, mit Hilfe des Pulfrich-Stufenphotometers einen Ueberblick über die Bindungsfähigkeit der einzelnen Substanzen zu bekommen, eine Methode, mit der es möglich ist, auch geringe Schwankungen zahlenmäßig festzulegen. Die Einrichtung und das Arbeiten mit dem Photometer sei hier kurz angezeigt:

Das Photometer besteht aus zwei parallel angeordneten Fernrohren mit gemeinsamem Okular. Das Gesichtsfeld wird durch eine senkrechte Trennungslinie in zwei halbkreisförmige Teile geteilt, von denen jeder einem der Fernrohre entspricht. Die Meßvorrichtung besteht aus zwei gleichen, an den Fernrohren angebrachten Meßtrommeln, mit denen sich die Helligkeit im Gesichtsfeld meßbar verändern läßt. Zur Aufnahme der zu untersuchenden Lösungen dienen Gefäße mit Tauchdeckeln von bestimmter Schichtdicke.

Bringt man nun eine Küvette mit einer Flüssigkeit in den Strahlengang des einen Fernrohres, dessen Meßtrommel auf volle Oeffnung (100) steht, so bemerkt man eine Verdunkelung der betreffenden Gesichtshälfte. Man dreht nun die andere Trommelschraube so lange, bis beide Gesichtshälften gleiche Helligkeit zeigen und liest das Ergebnis an der betreffenden Meßtrommel ab. Die Ablesungen stellen direkt die Intensität des von der Lösung durchgelassenen Lichtes in Prozenten der einfallenden Intensität dar. Ablesung 56 bedeutet also z. B., daß von der einfallenden Lichtmenge 56 % hindurchgelassen und 44 % adsorbiert werden. Auf die Adsorptionsversuche übertragen würde das heißen: je tiefer die abgelesenen Werte liegen, desto trüber war eine Bakterien-Lysin-Bouillon, desto mehr Lysin war adsorbiert worden.

Die Werte, die sich aus den Ablesungen ergeben, sind, außer von dem Trübungsgrad der Flüssigkeit, von der Schichtdecke in den Meßgefäßen, von der Stärke der Lichtquelle und ihrer Entfernung vom Photometer abhängig. Als Lichtquelle verwandte ich die der Apparatur beigefügte Nitra-Lampe (30 Watt, 8 Volt) mit gerader Glühspirale, die Schichtdicke in den Küvetten betrug 10 mm, der Abstand der Lampe vom Photometer 30 cm. Die Versuchsbedingungen blieben in allen Fällen konstant. Bevor die Messung der einzelnen Röhren vorgenommen wurde, wurden sie zur Fixierung der Trübung und Abtötung der Bakterien mit 1 ccm einer zehnfach verdünnten 40proz. Formalinlösung versetzt. Gemessen wurden die Rörchen, die den adsorbierten Phagen plus Bakterien enthielten und zum Vergleich diejenigen, die das nicht adsorbierte Lysin plus Bakterien enthielten.

Adsorption durch $Al(OH)_3$.

Tabelle I.

	Verdünnungen.				
	$1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
	Abgelesene Trommel-Teile:				
a) Nicht absorbiertes Lysin	75,0	75,0	75,0	74,8	74,4
b) Adsorbiertes Lysin:					
Schüttelzeit 15 Min.	74,8	74,7	74,3	74,2	74,2
„ 30 „	73,2	72,6	72,0	71,8	71,7
„ 60 „	72,0	68,5	67,0	63,2	60,5
„ 60 „ plus 8 Std. Eisschrank	67,4	61,8	59,3	56,2	50,0
„ 60 „ plus 24 Std. Eisschrank	62,2	54,9	51,0	49,5	46,5

Die Trommelwerte verstehen sich als arithmetisches Mittel aus je zehn Messungen pro Röhrchen. Die Kontrollen waren bei sämtlichen Versuchen steril!

Die einzelnen Ergebnisse zeigen, daß nach einer kurzen Schütteldauer von 15 Min. beispielsweise nur sehr wenig adsorbiert wurde. Selbst in den hohen Verdünnungen sind nur geringgradige Unterschiede in der Trübung festzustellen. Gildemeister und Herzberg gaben, im Gegensatz hierzu an, schon nach wenigen Minuten des Schüttelns das Lysin fixiert zu haben! Aus dem weiteren Verlauf ist zu ersehen, daß es durch Verlängerung der Schüttelzeit und anschließenden Aufenthalt im Eisschrank möglich ist, die Menge des an das Adsorbens fixierten Lysins beträchtlich zu erhöhen. Das plötzliche Abfallen der Werte nach dem Eisschrankaufenthalt ist wohl so zu erklären, daß nach dieser Zeit eine Verfestigung des Lysins an dem Adsorbens stattfindet. Nach allem kann man sagen, daß die Menge des gebundenen Lysins von der Schüttelzeit und der weiteren Dauer der Einwirkung abhängig ist. Anschließend wurde nun versucht, das an der Aluminiumhydroxyd fixierte Lysin wieder frei zu machen. Zur Absprengung diente eine einer 0,9proz. NaCl-Lösung äquivalente sekundäre Ammonphosphatlösung. Das lysinhaltige $Al(OH)_3$-Zentrifugat wurde zunächst mit 10 ccm Kochsalz gewaschen und dann mit 10 ccm Ammonphosphatlösung geschüttelt. Parallel hierzu verlief ein zweiter Versuch, bei dem die 0,9proz. Kochsalzlösung als Absprengmedium diente. In beiden Fällen betrug die Schüttelzeit je eine Stunde. Nach dem Schütteln wurde zentrifugiert und von der überstehenden Flüssigkeit — analog den Adsorptionsversuchen — Verdünnungsreihen

angesetzt und mit 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung versetzt. Nicht nur das Ammonphosphat und das Kochsalz, sondern auch das Waschwasser wurde in derselben Weise auf etwa vorhandenes Lysin untersucht. Die aus diesen Versuchen resultierenden Ergebnisse zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

		Verdünnungen:				
		$1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
Absprengung mit: a) Ammonphosphat b) Kochsalz		Abgelesene Trommel-Teile:				
Nach einer Adsorptionszeit von:						
60 Minuten	a)	68,3	67,4	65,0	60,0	55,2
	b)	67,0	65,0	60,2	57,0	54,0
60 Minuten + Eisschrank	a)	74,4	73,0	70,0	67,3	63,0
	b)	70,0	67,6	64,2	60,0	56,0
60 Min. + 24 Std. Eisschr.	a)	75,0	74,2	72,8	70,0	66,4
	b)	70,0	69,0	67,3	61,5	57,0

Aus den Zahlen der Tabelle geht hervor, daß sich Ammonphosphat besser als Kochsalz zum Absprengen des Lysins eignet, daß weiter die Menge des abgelösten Lysins mit steigender Adsorptionszeit zunimmt, und es sogar — wenn auch nur in den ersten Verdünnungen — möglich ist, die gleiche Lysinmenge nachzuweisen, die vor Beginn der Adsorption vorhanden war. Auch in dem Waschwasser, das nach der Meinung einiger Autoren frei von Lysin sein soll, konnte, wenn nur in ganz geringen Mengen, das bakteriophage Agens nachgewiesen werden. Siehe Tabelle III.

Tabelle III.

	Verdünnungen:				
	$1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
	Abgelesene Trommel-Teile:				
Waschwasser von Versuch I: Schüttelzeit 60 Min.	67,0	65,5	60,2	57,0	54,0
Waschwasser von Versuch II: Schütteleit. 60 Min. + 8 Std. Eisschrank	66,2	63,0	59,4	56,0	50,0
Waschwasser von Versuch III: Schüttelzeit 60 Min. + 24 Std. Eisschrank.	65,0	61,4	56,0	54,2	48,0

Im Gegensatz zu den vorhergehenden Versuchen sieht man hier fallende Werte, was sich wohl mit der zunehmenden festeren Bindung des Lysins an das Adsorbens erklären läßt. Die nachgewiesenen Lysinmengen sind, wie die Zahlen der Tabelle ergeben, sehr klein, aber doch immerhin gut meßbar.

In derselben Weise wurden nun Versuche mit Tierkohle angestellt. Je 1 g des Adsorbens wurde mit 10 ccm lysinhaltiger Bouillon 60 Minuten geschüttelt und dann acht resp. vierundzwanzig Stunden in den Eisschrank gestellt. Die niedrigen Schüttelzeiten wurden in allen nachfolgenden Versuchen ausgelassen, da die adsorbierenden Lysinmengen zu klein waren, um noch von Interesse zu sein. Die Tabellen IV und V zeigen die gewonnenen Ergebnisse.

Tabelle IV.

(Versuche mit Tierkohle.)

	Verdünnungen.				
	$1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
	Abgelesene Trommel-Teile:				
A. Nicht adsorbiertes Lysin:	75,0	75,0	75,0	74,8	74,4
B. Adsorbiertes Lysin:					
1. Von Tierkohle adsorbiert. L.					
Adsorptionsz. 60 Min.	73,5	71,0	69,0	67,0	65,0
„ 60 „	66,0	64,5	64,3	62,0	58,3
+ 8 Std. Eisschrank					
„ 60 „	64,5	60,0	58,4	57,0	48,4
+ 24 Std. Eisschrank					
2. Von chemisch aktiver Kohle adsorbiertes Lysin:					
Adsorptionsz. 60 Min.	68,5	65,8	62,4	59,0	53,5
„ 60 „	66,0	63,6	60,5	56,3	51,7
+ 8 Std. Eisschrank					
„ 60 „	63,3	59,3	53,4	52,0	47,8
+ 24 Std. Eisschrank					

Wie aus den Zahlenwerten der Tabelle zu ersehen ist, besitzt die chemisch aktive Kohle größere Adsorptionsfähigkeit als die Tierkohle, was wahrscheinlich mit der größeren Oberfläche der ersteren im Zusammenhang steht.

Die im Anschluß hieran gemachten Absprengungen zeigten auch hier wieder die bessere Eignung des Ammonphosphat als Absprengmedium.

Tabelle V.

		Verdünnungen: $1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
Absprengung mit: a) Ammonphosphat b) Kochsalz						
		Abgelesene Trommel-Teile:				
1. Von Tierkohle nach einer Adsorptionsz. von						
60 Minuten	a)	67,4	67,0	63,5	60,5	56,2
	b)	66,0	64,2	62,0	60,0	55,0
60 Minuten	a)	70,2	69,3	68,0	66,2	60,3
+ 8 Std. Eisschrank	b)	69,0	67,2	64,3	61,1	56,8
60 Minuten	a)	72,4	71,8	70,2	67,5	64,2
+ 24 Std. Eisschr.	b)	70,0	68,0	65,8	63,2	59,4
2. Von chem. aktiver Kohle nach einer Adsorptionsz. von						
60 Minuten	a)	68,0	67,3	64,0	61,0	56,2
	b)	66,2	64,0	62,5	60,0	55,4
60 Minuten	a)	70,4	69,8	68,0	66,0	57,2
+ 8 Std. Eisschr.	b)	69,2	68,0	64,5	62,2	57,0
60 Minuten	a)	73,2	72,0	70,3	67,8	65,3
+ 24 Std. Eisschr.	b)	70,4	68,6	66,0	64,0	59,5

Es ist bemerkenswert, daß es bei weitem nicht möglich war, die Mengen abzulösen, wie sie bei Versuchen mit $Al(OH)_3$ frei wurden, auch fallen die geringen Abweichungen zwischen Absprengwerten der Tierkohle und denen der chemisch aktiven Kohle auf, die, gemessen an der adsorbierten Lysinmenge, viel stärker sein müßten. Erwartungsgemäß zeigten auch die Werte des Waschwassers nur geringe Verschiedenheiten (s. Tab. VI).

Tabelle VI.

	Verdünnungen:				
	$1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
	Abgelesene Trommel-Teile:				
Waschwasser von Versuch I: Adsorptionszeit 60 Min.	67,0	65,8	60,8	58,4	55,3
Waschwasser von Versuch II: Adsorptionszeit 60 Min. + 8 Std. Eisschrank	65,7	63,2	60,4	56,0	52,7
Waschwasser von Versuch III: Adsorptionszeit 60 Min. + 24 Std. Eisschrank	64,5	61,8	59,0	54,0	51,3
Zweite Waschwasserwerte der chem. akt. Kohle:					
Versuch I: Adsorptionsz. 60 Min.	67,5	66,0	62,0	59,3	56,4
Versuch II: Adsorptionsz. 60 Min. + 8 Std. Eisschrank	66,0	64,3	61,2	56,4	53,8
Versuch III: Adsorptionszeit 60 Min. + 24 Std. Eisschrank	65,0	62,8	60,3	54,3	52,0

Adsorptionsversuche mit Kieselsäure.

Es wurden vier verschiedene Arten von Kieselsäure zu Adsorptionszwecken verwandt, und zwar Kieselsäure „a", Kieselsäure Gel, Kieselsäure Gel „Marke A", und Kieselsäure Gel „Marke F". Die Adsorbentien wurden in einem Mörser zerrieben und, um für alle vier Arten gleiche Korngrößen zu haben, durch das Sieb DIN 1171 Nr. 80 gerieben, was annähernd einer Korngröße von 0,050 mm entspricht. Ein g des auf diese Art und Weise gewonnenen Adsorbens wurde mit je 10 ccm Lysinbouillon zusammengebracht und geschüttelt.

Tabelle VII.

	Verdünnungen: $1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
	Abgelesene Trommel-Teile:				
A. Nicht adsorb. Lysin:	75,0	75,0	75,0	74,8	74,4
B. Adsorbiertes Lysin: Adsorptionszeit 60 Min. + 24 Std. Eisschrank					
1. Kieselsäure „a“	72,0	69,0	68,7	67,8	63,2
2. Kieselsäure „Gel“	69,8	68,6	67,5	66,5	52,2
3. Kieselsäure „Gel Marke A“	70,4	69,5	64,5	63,0	55,3
4. Kieselsäure „Gel Marke F“	71,0	70,5	68,5	65,3	56,3

Die Ergebnisse, die ich fand, stehen im gewissen Gegensatz zu Resultaten, wie sie von Gildemeister und Herzberg veröffentlicht wurden. Den beiden Autoren gelang es nämlich mit 0,2 g geglühter Kieselgur, nach drei Minuten Schüttelzeit aus 10 ccm einer 0,1proz. Lysinbouillon, das bakteriophage Agens „völlig zu adsorbieren“, wohingegen die von mir gefundenen Werte zeigen, daß selbst nach hohen Schüttelzeiten nicht einmal die Hälfte fixiert war. Das kann nun einmal an der chemischen Verschiedenheit der Adsorbentien liegen, oder aber — und das halte ich für das wahrscheinlichere — an der feineren Nachweismöglichkeit des Lysins in der Bouillon mit Hilfe der Photometermethode.

Mit der Kieselsäure 2 stellte ich dann einen Absprengversuch an, der sehr schön zeigt, daß es in der Tat möglich ist, das adsorbierte Lysin vollständig wieder abzuspalten.

Tabelle VIII.

	Verdünnungen. $1:10^4$	$1:10^6$	$1:10^8$	$1:10^{10}$	$1:10^{12}$
	Abgelesene Trommel-Teile:				
a) Ammonphosphat:					
Adsorptionszeit von 60 Min. Schüttelz. + 24 Std. Eisschrank	69,7	68,4	67,0	66,0	51,9
b) Kochsalz:					
Adsorptionszeit von 60 Min. Schüttelz. + 24 Std. Eisschrank	67,8	66,5	65,3	63,7	50,0

Die Werte des Waschwassers liegen, wie vorauszusehen (Tabelle IX) sehr tief, da die Verfestigung des Lysins an das Adsorbens nach einer solchen Zeit sehr groß ist.

Tabelle IX.

	Verdünnungen: 1:10^4	1:10^6	1:10^8	1:10^{10}	1:10^{12}
	Abgelesene Trommel-Teile:				
Waschwasserwerte nach einer Adsorptionszeit von 60 Min. + 24 Std. Eisschrank	59,0	56,8	54,2	51,2	49,4

Bedeutend bessere Resultate als die Versuche mit den Kieselsäuren ergaben diejenigen mit Kaolin, das zu den negativ geladenen Kolloiden zu rechnen ist. 1 g des Adsorbens wurde, wie auch in den vorhergehenden Versuchen, mit 10 ccm einer 0,1-prozentigen Lysinbouillon 60 Minuten geschüttelt und dann 24 Stunden in den Eisschrank gebracht.

Tabelle X.

	Verdünnungen: 1:10^4	1:10^6	1:10^8	1:10^{10}	1:10^{12}
	Abgelesene Trommel-Teile:				
1. Nicht adsorbiertes Lysin:	75,0	75,0	75,0	74,8	74,4
2. Adsorbiertes Lysin: Adsorptionszeit 60 Minuten + 24 Std. Eisschrank	66,0	65,0	63,5	61,9	57,2

Versuche mit Bolus alba, von dem man als positives Kolloid hier nur wenig erwarten konnte, zeigten tatsächlich die geringe Adsorptionsfähigkeit dieses Kolloids. Die Werte lagen nur wenig unterhalb derjenigen des nicht adsorbierten Lysins. Auch hier wurde 1 g Bolus alba mit 10 ccm einer 0,1proz. Lysinbouillon geschüttelt und 24 Stunden in den Eisschrank gesetzt.

Tabelle XI.

	Verdünnungen: 1:10^4	1:10^6	1:10^8	1:10^{10}	1:10^{12}
	Abgelesene Trommel-Teile:				
1. Nicht adsorbiertes Lysin:	75,0	75,0	75,0	74,8	74,4
2. Adsorbiertes Lysin: Adsorptionszeit 60 Minuten + 24 Std. Eisschrank	74,4	74,4	73,6	71,5	69,3

Zum Schlusse der Versuche seien die Ergebnisse noch einmal kurz zusammengefaßt. Es wurde bei den folgenden Adsorbentien die Abhängigkeit der Bindung eines bakteriophagen Ruhr-Lysins von der zeitlichen Dauer der Einwirkung genauer untersucht und ferner die Absprengmöglichkeiten festgestellt.

a) Aluminiumhydroxyd,
b) Tierkohle,
c) chemisch aktive Kohle,
d) vier verschiedene Arten von Kieselsäure,
f) Bolus alba.

Es adsorbierte am stärksten das Aluminiumhydroxyd. Dann folgen dem Grad der Adsorptionsfähigkeit nach: chemisch aktive Kohle, Tierkohle, Kaolin, Kieselsäure „Gel", Kieselsäure „Gel Marke A", Kieselsäure „Gel Marke F", Kieselsäure „a" und Bolus alba. Während nach kurzen Schüttelzeiten nur wenig adsorbiert wurde, gelang es durch Verlängerung der Schüttelzeiten und einen anschließenden Aufenthalt im Eisschrank, dem man eine verfestigende Wirkung zuschreiben darf, die an die einzelnen Adsorbentien fixierten Lysinmengen beträchtlich zu erhöhen. Gleiche Verhältnisse liegen bei den Absprengversuchen mit Ammonphosphat und Kochsalz vor. Die abgelösten Lysinmengen waren nach kurzer Adsorptionszeit erwartungsgemäß gering und stiegen mit Verlängerung der Adsorptionszeit, wobei sich das Ammonphosphat als das bessere Absprengmedium erwies. —

An dieser Stelle ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Priv.-Doz. Dr. Fr. Sartorius für die Ueberlassung des Themas, sowie für die vielen wertvollen Ratschläge bei der Ausführung der Versuche meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Literatur.

Biemond jr., A. G.: Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 103, S. 685.

Biltz, Much, Siebert: Handbuch d. path. Mikroorganismen, Bd. I, T. 2, S. 1057.

Buchner, E., Klatte, E.: Zentralbl. f. Bakt., Bd. 21, I. O. S. 240.

Bechhold, H.: Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 105, S. 601.

Dahmen: Zentralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 76, S. 382.

Ehrlich u. Sachs, H.: Berliner klin. Wochenschr. 1902, Nr. 35, S. 816.

Fränkel-Schultz: Centralbl. f. Bakt., Bd. 51, I. O. S. 391.

Gildemeister-Herzberg: Centralbl. f. Bakt. 91, I. O., S. 228; Centralbl. f. Bakt., Bd. 91, I. O., S. 12.

Jötten: Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 44.

Jötten: Centralbl. f. Bakt., Bd. 89, I. O. S. 342.

Koch: Centralbl. f. Bakt., Bd. 99, I. O. S. 209.

Kraus-v. Eisler-Fukuhara: Zeitschr. für Immunforschung, Bd. 1, S. 307.

Landsteiner-Uhlirz: Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, I. O., S. 265.

Landsteiner-Stankovic: Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, I. O., S. 108.

Landsteiner-Stankovic: Centralbl. f .Bakt., Bd. 42, I. O., S. 353.

Majer: Archiv f. Hygiene, Bd. 98, S. 193.

Meißner: Centralbl. f. Bakt., Bd. 93, I. O., S. 489.

Otto, Munter: Handbuch d. path. Mikroorg., Bd. I, T. 1, S. 365.

Paschen: Handbuch d. path. Mikroorg., Bd. VIII, T. 2, S. 867.

Praußnitz: Centralbl. f. Bakt., Bd. 89, I. O., S. 187.

Praußnitz: Centralbl. f. Bakt., Bd. 93, I. O. S. 148.

Putter: Zeitschr. f. Immun.-Forschung, Bd. 32, S. 538.

Rakusin: Zeitschr. f. Immun.-Forschung, Bd. 34, S. 168.

Rakusin, M. A. und Flieher, G. D.: Zeitschr. f. Immun.-Forschung, Bd. 34, S. 177.

Rona, P.: Fermentmethoden, T. 1. Verlag J. Springer, Berlin (1926).

Walbum: Zeitschr. f. Immun.-Forschung, Bd. 21, S. 538.

Zung, E.: Zeitschr. f. Immun.-Forschung, Bd. 19, S. 326.

Lebenslauf.

Am 29. September 1910 wurde ich als Sohn des Bäckermeisters Heinrich Ebeling in Celle i. H. geboren. Von Ostern 1917 bis Ostern 1930 besuchte ich die dortige Oberrealschule und bestand an dieser Anstalt das Abiturientenexamen. Anschließend widmete ich mich dem Studium der Zahnmedizin an den Universitäten Marburg (Lahn) und Münster i. W. Von den vorgeschriebenen 7 Semestern verbrachte ich vier in Marburg, die restlichen drei in Münster. Nach dem dritten bestand ich das zahnärztliche Physikum in Marburg mit „gut“, nach dem siebenten das Staatsexamen in Münster mit „sehr gut“.